Korean Journal of Microbiology (2018) Vol. 54, No. 4, pp. 325-329
DOI https://doi.org/10.7845/kjm.2018.8093
Copyright ⓒ 2018, The Microbiological Society of Korea
pISSN 0440-2413
eISSN 2383-9902

# 분열효모 Pci2가 TREX-2 구성요소로서 mRNA 방출에 미치는 영향

박진희 · 윤진호*
성신여자대학교 바이오생명공학과

# Fission yeast Pci2 has function in mRNA export as a component of TREX-2

Jin Hee Park and Jin Ho Yoon*
*Department of Biotechnology, Sungshin Women's University, Seoul 01133, Republic of Korea*

(Received November 26, 2018; Revised December 4, 2018; Accepted December 5, 2018)

Thp1/PCID2, PCI domain-containing protein, is a component of the evolutionally conserved TREX-2 complex linking mRNA transcription and export. In fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*, the *pci2* (SPBC1105.07c) gene encodes a PCI domain-containing protein that is predicted as a fission yeast orthologue of Thp1 (in budding yeast)/PCID2 (in human). Repression of *pci2* expression inhibited both growth and mRNA export. And over-expression of *pci2* also exhibited growth retardation with slight accumulation of poly(A)$^+$ RNA in the nucleus. Moreover, yeast two-hybrid and co-immunoprecipitation analysis showed that the Pci2 protein physically interacted with Sac3 and Dss1, which are members of TREX-2 complex. These observations support that the *S. pombe* Pci2 protein, as a component of TREX-2 complex, is implicated in mRNA export.

**Keywords:** *Schizosaccharomyces pombe*, mRNA export, Pci2, TREX-2 complex

진핵생물의 유전정보가 리보솜에서 단백질로 번역되기 위해서는 핵에서 전사된 mRNA가 세포질로 방출되어야 한다. 진핵생물의 RNA 중합효소 II에 의해 전사된 pre-mRNA는 5' 말단의 캡핑, 스플라이싱, 3' 말단의 절단 및 폴리아데닐화를 거쳐 세포질로 방출 가능한 mRNP (messenger ribonucleoprotein)로 포장되는데, 이러한 과정을 완료한 성숙한 mRNA만이 핵공복합체(nuclear pore complex, NPC)를 통과해 세포질로 방출된다(Stewart, 2010; Rodriguez-Navarro and Hurt, 2011). 이와 같은 mRNA 생성의 여러 단계들과 mRNA 방출은 서로 연관되어 긴밀하게 상호 조절되며, 진화적으로 보존된 다양한 인자들이 관여한다(Katahira, 2015). TREX-2 복합체(Transcription-Export complex 2)는 RNA 중합효소 II 및 핵공복합체와 상호작용함으로써 mRNA 방출을 전사와 연결할 뿐만 아니라, mRNA 생성 단계들을 통합하고 조절하는데 관여하는 것으로 알려졌다(Fischer *et al*., 2002; Kohler and Hurt, 2007; Garcia-Oliver *et al*., 2012). TREX-2 복합체는 핵공복합체와 결합하고 있으며, mRNA 생성과 방출 뿐만 아니라 DNA 복제와 유전체의 안정성에도 관련되어 있다(Gonzalez-Aguilera *et al*., 2008; Bermejo *et al*., 2011). TREX-2 복합체에 결함이 생기면 전사된 mRNA는 DNA 주형으로부터 분리가 잘 안되어 DNA:RNA 혼성체(R-loop로 불림)가 축적되고, 이것은 전사 신장을 방해하고 전사-의존적인 DNA 재조합을 증가시킨다(Tous and Aguilera, 2007; Bhatia *et al*., 2014). 이외에도 출아효모인 *Saccharomyces cerevisiae*에서는 *GAL1*과 같이 활발히 전사되는 유전자들의 위치를 핵막으로 이동시키는 'gene gating'에도 관여한다(Jani *et al*., 2014). 효모에서 사람에 이르기까지 진화적으로 잘 보존되어 있는 TREX-2 복합체는 Sac3 (출아효모)/GANP (고등생물), Thp1/PCID2, Sem1/DSS1, Sus1/ENY2, Cdc31/centrin2 등 5종류의 단백질로 이루어졌는데, Sac3/GANP

***For correspondence.** E-mail: jhoyoon@sungshin.ac.kr;
Tel.: +82-2-920-7675; Fax: +82-2-920-2047

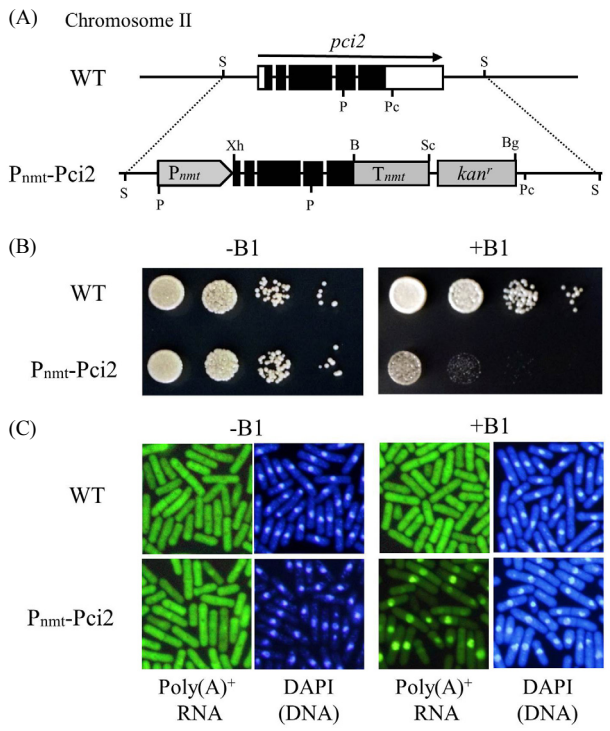


**Fig. 1. *S. pombe pci2* is crucial for growth and mRNA export.** (A) A schematic diagram depicts the wild-type *pci2* allele and the $P_{nmt}$-*pci2* allele on chromosome II of *S. pombe*. The genomic *pci2* (SPBC1105.07c) coding region was substituted with the $P_{nmt}$-*pci2*:: *kan*$^r$, using one-step gene disruption method. The coding region of *pci2* gene is indicated by closed boxes and four introns are shown by horizontal lines between the exons. Two open boxes represent 5' untranslated region (UTR) and 3' UTR, respectively. The direction of transcription is shown by arrow above the *pci2* gene. $P_{nmt}$ and $T_{nmt}$ stand for the promoter and transcription termination sequence of *nmt1* gene. B, *Bam*HI; Bg, *Bgl*II; P, *Pst*I; Pc, *Pac*I; S, *Sal*I; Sc, *Sac*I; Xh, *Xho*I. (B) The $P_{nmt}$-Pci2 mutant and wild type *pci2* (WT) cells were monitored by spot assay, after incubation for 4 days at 30°C on EMM plates with (+B1) and without (-B1) thiamine. (C) Poly(A)$^+$ RNA localization in the $P_{nmt}$-Pci2 mutant and wild type. Cells were grown to the mid-log phase in appropriately supplemented EMM medium at 30°C, and were then shifted to EMM medium without thiamine (-B1) or with thiamine (+B1), and grown for 18 h. *In situ* hybridization was performed to detect poly(A)$^+$ RNA using Oligo-$(dT)_{50}$ carrying an α-digoxygenin at the 3' end as the hybridization probe. Coincident DAPI (4'6'-diamidine-2-phenylindole) staining to identify the nucleus is shown in the right panels.

단백질이 scaffold로 작용하여 나머지 단백질들이 이것에 결합하고 있는 구조이다(Ellisdon *et al*., 2012; Jani *et al*., 2012).

본 연구에서는 분열효모인 *Schizosaccharomyces pombe*에서 Thp1/PCID2의 이종상동체(ortholog)로 추정되는 Pci2가 실제 TREX-2 복합체의 구성요소로서 mRNA 방출에 관여하는지 조사하였다. *S. pombe*의 *pci2* 유전자(systematic ID; SPBC1105.07c)는 4개의 인트론이 있으며(Fig. 1A), 442개 아미노산으로 구성된 예상 분자량 50.84 kDa, 등전점 pH 9.26인 단백질을 암호화하고 있다. NCBI (National Center for Biotechnology Information)에서 제공하는 Global Alignment 및 COBALT 프로그램을 사용하여 Pci2 단백질의 아미노산 서열을 분석하면, 전반적으로 Thp1/PCID2 단백질들과 낮은 유사성을 보이지만, 출아효모의 Thp1보다 고등생물의 PCID2 단백질들과 더 유사한 결과를 보였다(Thp1과는 39.6%, 사람 PCID2와는 44.2%의 유사성 보임). 그러나 Pci2에도 Thp1/PCID2 단백질의 구조적 특징인 PCI 도메인(proteasome lid, CSN, eIF3 복합체 등에서 발견되는 단백질 scaffold 구조)은 잘 보존되어 있다(Gordon *et al*., 2017).

2번 염색체에 위치한 *pci2*는 생장에 필수적인 유전자이기 때문에 반수체 결실돌연변이를 제작할 수 없으므로, 티아민(비타민 B1)에 의해 억제되는 *nmt1* 프로모터를 이용하여 $P_{nmt}$-Pci2 균주를 제작하였다. 야생형 *nmt1* 프로모터는 매우 강력한 프로모터로 억제되더라도 기본 전사량이 많기 때문에, 발현이 가장 약한 돌연변이 *nmt1* 프로모터를 사용하였다(Maundrell, 1993). *pci2* 유전자의 ORF (open reading frame)을 *nmt1* 프로모터와 전사종결서열 사이에 클로닝한 후, one-step gene disruption 방법을 사용하여 반수체(haploid) 야생형 균주인 AY217 (*h*$^-$ *leu1-32 ura4-d18*)을 형질전환하였다. 이렇게 제작한 $P_{nmt}$-Pci2 균주에는 야생형 *pci2* 대립유전자가 $P_{nmt}$-*pci2*::*kan*$^r$ 대립유전자로 치환되어 있다(Fig. 1A). $P_{nmt}$-Pci2 균주와 야생형 균주의 생장을 spot assay로 비교하였다(Fig. 1B). $P_{nmt}$-Pci2 균주는 *pci2*가 발현되면(티아민이 없는 배지, -B1) 대조군인 야생형(WT)과 비슷한 정도의 생장을 보였지만, *pci2*의 발현이 억제되면(티아민이 존재하는 배지, +B1) 생장이 멈추었다. 이러한 결과는 *pci2*가 생장에 필수적인 유전자라는 것을 확인시켜준다. 다음으로 Pci2가 mRNA 방출에 관여하는지 알아보기 위해, fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 방법을 사용하여(Yoon *et al*., 2000) poly(A)$^+$ RNA의 세포내 분포를 살펴보았다(Fig. 1C). 야생형 균주에서는 티아민의 존재와는 상관없이 poly(A)$^+$ RNA가 세포 전체에 퍼져 있었지만, $P_{nmt}$-Pci2 균주에서는 티아민에 의해 *pci2*의 발현이 억제되면(+B1) poly(A)$^+$ RNA가 핵 안에 축적되고 세포질에는 농도가 줄어드는 것을 관찰하였다. 이러한 실험결과는 Pci2는 생장에 필수적이며 mRNA 방출에 관여한다는 것을 의미한다.

*pci2* 유전자의 발현을 억제하면 생장과 mRNA 방출에 영향을 미치므로, 반대로 *pci2* 유전자가 과발현(over-expression)되면 세포에 어떤 영향을 미치는지 알아보았다(Fig. 2). 이번에는 강력한 야생형 *nmt1* 프로모터를 가진 pREP3X 벡터에 *pci2* 유전자를 클로닝한 3X-Pci2 벡터를 제작한 후, 야생형 AY217균주에 형질전환시켰다. 과발현 균주는 염색체에서 발

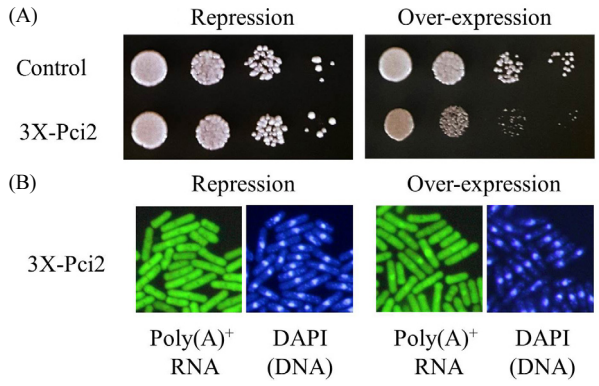


**Fig. 2. Over-expression of *pci2* cause slight growth retardation and the defects in mRNA export.** (A) Growth of wild type strain (AY217) harboring pREP3X plasmid without an insert (control) or with *pci2* gene (3X-Pci2) whose expression is under the control of *nmt1* promoter. Strains were monitored by spot assay after incubation on EMM plates for 4 days in presence of thiamine (repression) or in absence of thiamine (over-expression). (B) Poly(A)$^+$ RNA localization. Cells carrying 3X-Pci2 plasmid were grown to the mid-log phase in appropriately supplemented EMM medium in the presence of thiamine at 30°C. The cells were then shifted to EMM medium without (over-expression) or with thiamine (repression), and were grown for 18 h. Coincident DAPI staining is shown in the right panels.

현되는 *pci2* 유전자 이외에 티아민이 없으면 3X-Pci2 벡터에서 훨씬 많은 양의 *pci2*가 발현된다. 대조군으로는 빈 pREP3X 벡터를 야생형 균주에 형질전환시켰다. 과발현 균주(3X-Pci2)는 3X-Pci2 벡터에서의 *pci2* 발현을 억제하면 대조군과 유사한 생장을 보였지만, 티아민이 없는 배지에서 *pci2*가 과발현되면 대조군에 비해 생장이 느려졌다(Fig. 2A). 또한 생장이 저해되는 *pci2* 과발현 조건에서는 poly(A)$^+$ RNA도 핵 안에 약간 축적되는 것을 관찰하였다(Fig. 2B). 이러한 실험결과는 *pci2* 유전자가 과발현되어도 정상적인 생장과 mRNA 방출이 방해받는다는 것을 의미한다. Pci2가 결실되었을 때에는 생장과 mRNA 방출에 필수적인 TREX-2 복합체 자체가 붕괴되거나, TREX-2의 중요 영역의 기능을 상실할 수 있다. 하지만 Pci2가 과발현되는 경우에도 정상적인 TREX-2의 구성요소로서 Pci2와 과발현되어 독립적으로 존재하는 Pci2가 이들과 결합하는 핵산(DNA, RNA) 또는 다른 mRNA 방출인자 등과 경쟁함으로써 생장과 mRNA 방출을 저해할 수 있을 것으로 여겨진다.

*pci2* 유전자의 발현을 억제하거나 과발현시키는 경우 생장과 mRNA 방출에 영향을 미치므로, Pci2 단백질이 TREX-2 복합체의 구성인자인지 알아보았다. *S. pombe*의 유전체에는 Sac3, Pci2, Sus1, Cdc31, Rpn15 (Dss1) 등 5종류의 TREX-2 복합체 구성요소를 암호화하는 유전자가 모두 존재하고, Pci2를 제외하고 모두 TREX-2 구성요소임이 알려졌다(Thakurta *et al*., 2005; Kang and Yoon, 2006; Koh and Yoon, 2016; Bae and Yoon, 2017). Pci2 단백질이 TREX-2 복합체의 구성요소들과 물리적인 결합을 하는지 알아보기 위해 Yeast two-hybrid (Y2H) 방법을 사용하였다. Y2H 분석에는 *lexA* 작동자의 DNA 결합 영역(BD)을 가진 pTLexA4 벡터, 그리고 GAL4 활성화 영역(AD)을 가진 pGAD424 벡터를 이용하였다(Clontech Laboratories, Inc.). 이를 위해 *S. pombe* TREX-2 복합체의 구성요소 유전자들의 cDNA를 pTLexA4 벡터와 pGAD424 벡터에 각각 클로닝하고 DNA 염기 서열결정을 통해 확인된 것들을, L40 균주 (*MATa his3 Δ200 trp1-901 leu2-3112 ade2 LYS::4lexAop-HIS3 URA3::8lexAop-LacZ GAL4*)에 형질전환하였다(Koh and Yoon, 2016). 다양한 조합의 클로닝된 벡터들로 형질전환된 L40 균주의 리포터 유전자인 *His3*와 *LacZ* 유전자의 발현을 조사함으로써, 형질전환된 벡터에서 발현된 단백질들의 상호작용을 알아보았다. 먼저 Pci2가 GAL4 활성화 영역(AD)과 융합된 AD-Pci2와 BD-X (빈 pTLexA4 벡터) 또는 *lexA* 작동자의 DNA 결합 영역(BD)과 융합된 BD-Pci2와 AD-X (빈 pGAD424 벡터)의 조합은 리포터인 *His3*와 *LacZ* 유전자를 발현시키지 못하는 것을 확인하였다. Pci2와 다른 TREX-2 복합체의 구성요소들과 Y2H 결과는 Table 1에 정리하였다. BD-Pci2의 경우는 AD-Dss1 또는 AD-Cdc31과 상호작용하였고, AD-Pci2의 경우는 BD-Dss1 또는 BD-Sus1과 상호작용하여 리포터 유전자를 발현시켰다. 그러나 BD-Sus1와 BD-Dss1의 경우, 활성화 영역(AD)을 가진 파트너 없이도(AD-X와 BD-Sus1 또는 AD-X와 BD-Dss1) 홀로 리포터 유전자를 발현시키므로 AD-Pci2와의 상호작용을 확인할 수 없었다. Cdc31의 경우는 AD-Cdc31과 BD-Pci2의 조합만 리포터 유전자를 발현시켰고, 반대의 경우는 발현시키지 못해 직접적인 상호작용에 의한 것인지 또는 간접적인 효과인지 해석하기 어려웠다. 그러나 음성 대조군(AD-Dss1와 BD-X의 조합)은 전혀 리포터 유전자를 발현하지 못한 것에 비해, AD-Dss1와 BD- Pci2 조합은 리포터 유전자를 확실히 발현했기 때문에 Pci2와 Dss1은 물리적으로 결합하는 것으로 보인다. 최근 발표된 *S. cerevisiae* TREX-2의 구조 연구에 의하면, TREX-2 복합체는 3 영역으로 나눌 수 있다

**Table 1. Yeast two-hybrid analysis**

| AD- | BD- | Interaction | AD- | BD- | Interaction |
|---|---|---|---|---|---|
| [a]X | Pci2 | − | Pci2 | X | − |
| Sac3 | Pci2 | − | Pci2 | Sac3 | − |
| Dss1 | Pci2 | + | Pci2 | Dss1 | + |
| Cdc31 | Pci2 | + | Pci2 | Cdc31 | − |
| Sus1 | Pci2 | − | Pci2 | Sus1 | + |
| Cdc31 | X | − | X | Dss1 | + |
| Dss1 | X | − | X | Sus1 | + |

[a]X indicates the empty vector.

(Schneider *et al*., 2015; Gordon *et al*., 2017). N-영역(Sac3의 1-100 아미노산 잔기)은 FG-유사 반복을 가지는 부위로 mRNA 방출인자인 Mex67: Mtr2와 결합한다. M-영역(Sac3의 100-551잔기)은 α-나선을 형성하는TPR (tetratricopeptide)-유사 반복들로 구성된 PCI 접힘 구조로, Thp1 단백질의 PCI 접힘 구조와 결합하여 함께 모듈을 형성한다. Sem1 (Dss1의 이종상동체) 단백질은 Thp1에 결합하여 M-영역을 안정시킨다. M-영역은 DNA, RNA뿐만 아니라 전사 매개자 복합체(Mediator complex)와 결합하여 전사 활성화 및 mRNA 방출에 관여한다. CID-영역(Sac3의 720-805잔기)은 Cdc31과 Sus1이 결합하여 TREX-2가 핵공복합체에 위치하도록 한다. 그러므로 Pci2 (Thp1의 이종상동체)와 Dss1의 물리적 결합을 보여주는 Y2H 실험결과는 출아효모 TREX2의 구조 연구결과와 일치한다. 그러나 Y2H 분석에서는 Pci2와 Sac3의 물리적 결합을 확인할 수 없었는데, 이것은 M-영역 부위가 아니라 커다란 Sac3 단백질 전체를 사용하였기 때문으로 추정된다. 또한 Sus1은 TREX-2 이외에 전사 보조활성자인 SAGA 복합체의 구성요소이므로(Garcia-Molinero, *et al*., 2018), BD-Sus1 홀로 리포터 유전자들을 발현시키는 것으로 추정된다. Dss1도 전사 매개자 복합체와 결합하여 유전자 발현을 조절하는 TREX-2의 M 영역의 구성요소이기 때문에(Gordon *et al*., 2017), Y2H 분석에서 BD-Sus1 홀로 리포터 유전자들을 발현시키는 것으로 추정된다.

Pci2와 Sac3 사이의 물리적 상호작용을 확인하기 위해, 공동침전(co-immunopreciptation, Co-IP) 실험을 수행하였다. 이를 위해 *pci2*의 cDNA를 pSLF273 벡터(Forsburg and Sherman, 1997)에 클로닝하여 Pci2의 N 말단에는 HA tag을 붙인 HA-Pci2 벡터를 제작하였다. 제작된 벡터를 Sac3-TAP 균주(Sac3의 C 말단에 TAP tag이 결합된 단백질이 발현됨)와 TAP만 발현되는 대조군 균주에 각각 형질전환하였다(Bae and Yoon, 2017). 대조군에서는 IgG beads를 사용하여 Tap 단백질을 침전시켰을 때, Sac3-Tap 단백질이 없기 때문에 HA-Pci2 단백질이 예상대로 IgG beads에 포획되지 않았다(Fig. 3, Lanes 4~6). 그러나 Sac3-Tap 단백질을 침전시켰을 때는 HA- Pci2 단백질이 함께 포획되었다(Fig. 3, Lanes 1~3). Y2H와 Co-IP 실험결과는 Pci2가 Sac3, Dss1 단백질들과 물리적으로 결합함을 의미한다. 본 연구결과들은 *S. pombe*의 Thp1/PCID2의 이종상동체인 Pci2도 TREX-2 복합체의 구성요소로서 mRNA 방출에 관여함을 시사한다. 비록 전체적인 아미노산 서열의 유사성은 낮더라도 PCI 도메인을 가지고 있는 분열효모 *S. pombe*의 Sac3와 Pci2는 서로 직접 결합하고 mRNA 방출과 생장에 필수적이므로, *S. cerevisiae*의 Sac3와 Thp1 결합처럼 핵산과

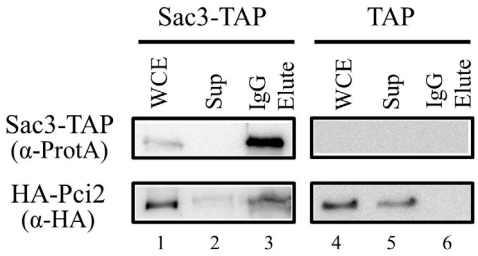


**Fig. 3. Physical interaction of Pci2 with Sac3 in *S. pombe* extracts.** The cells expressing Sac3-TAP (lanes 1~3) and TAP as a control (lanes 4~6) were transformed with HA-Pci2 plasmids. Western hybridizations were performed using antibodies against HA or protein A (TAP). Input whole cell extracts (WCE), supernatants (Sup), and eluents from IgG bead (IgG Elute) are shown as indicated.

전사 매개자의 결합 부위를 제공하는 TREX-2 복합체의 핵심 구성요소로 사료된다.

출아효모 *S. cerevisiae*의 TREX-2 복합체는 전사, mRNA 방출, gene gating, DNA 복제, 유전체의 안정성 등 정말 다양한 염색질-연관 과정들의 조절에 관여한다(Schubert and Kohler, 2016). 초파리, 식물, 사람에 이르기까지 진화적으로 잘 보존된 TREX-2 복합체는 고등생물에서도 mRNA 방출 및 전사와 연관되어 있지만 출아효모와 같이 다양한 과정에 관여하는지 확실치 않다. 또한 사람의 TREX-2는 출아효모와는 다르게 SAGA와 직접 결합하지 않으며, gene gating에 관여하는 것이 아니라 전사된 mRNA를 NPC로 이동시키는 역할을 하는 등의 차이점도 존재한다(Umlauf *et al*., 2013). 그러므로, 분열효모의 TREX-2 복합체의 구성요소와 기능 등을 연구하는 것은 진화적으로 보존된 TREX-2의 일반적인 역할을 이해하고 차이점을 구별하는데 유용할 것으로 사료된다.

## 적 요

PCI 영역을 포함하고 있는 Thp1/PCID2 단백질은 mRNA 전사와 방출을 연결하는, 진화적으로 보존된 TREX-2 복합체의 구성요소이다. 분열효모인 *Schizosaccharomyces pombe*에서 *pci2* (SPBC1105.07c) 유전자는 TREX-2 복합체의 구성요소인 Thp1 (출아효모)/PCID2 (사람)의 분열효모 이종상동체로 추정되는 PCI 영역을 갖는 단백질을 암호화하고 있다. *pci2* 발현을 억제하면 생장과 mRNA 방출이 모두 억제되었다. 그리고 *pci2* 유전자의 과발현 또한 생장을 늦추고 poly(A)$^+$ RNA를 핵 안에 약간 축적되게 하였다. 뿐만 아니라 Yeast two-hybrid와 공동침전(Co-immunoprecipitation) 분석 실험에서 Pci2는 TREX-2 복합체의 다른 구성요소인 Sac3, Dss1 단백

질들과 물리적으로 상호작용하였다. 이와 같은 관찰들은 *S. pombe*의 Pci2 단백질도 TREX-2 복합체의 구성요소로서 mRNA 방출에 관여함을 의미한다.

## 감사의 말

이 논문은 2016년도 성신여자대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 연구되었음.

## References

**Bae SJ and Yoon JH.** 2017. Effects of Sus1, a component of TREX-2 complex, on growth and mRNA export in fission yeast. *Korean J. Microbiol*. **53**, 49–54.

**Bermejo R, Capra T, Jossen R, Colosio A, Frattini C, Carotenuto W, Cocito A, Doksani Y, Klein H, Gomez-Gonzalez B, *et al.*** 2011. The replication checkpoint protects fork stability by releasing transcribed genes from nuclear pores. *Cell* **146**, 233–246.

**Bhatia V, Barroso SI, García-Rubio ML, Tumini E, Herrera-Moyano E, and Aguilera A.** 2014. BRCA2 prevents R-loop accumulation and associates with TREX-2 mRNA export factor PCID2. *Nature* **511**, 362–365.

**Ellisdon AM, Dimitrova L, Hurt E, and Stewart M.** 2012. Structural basis for the assembly and nucleic acid binding of the TREX-2 transcription-export complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **19**, 328–336.

**Fischer T, Strasser K, Racz A, Rodriguez-Navarro S, Oppizzi M, Ihrig P, Lechner J, and Hurt E.** 2002. The mRNA export machinery requires the novel Sac3p-Thp1p complex to dock at the nucleoplasmic entrance of the nuclear pores. *EMBO J.* **21**, 5843–5852.

**Forsburg SL and Sherman DA.** 1997. General purpose tagging vectors for fission yeast. *Gene* **191**, 191–195.

**Garcia-Molinero V, García-Martinez J, Reja R, Furio-Tari P, Antúnez O, Vinayachandran V, Conesa A, Pugh BF, Perez-Ortin JE, and Rodriguez-Navarro S.** 2018. The SAGA/TREX-2 subunit Sus1 binds widely to transcribed genes and affects mRNA turnover globally. *Epigenetics Chromatin* **11**, 13.

**Garcia-Oliver E, Garcia-Molinero V, and Rodriguez-Navarro S.** 2012. mRNA export and gene expression: the SAGA-TREX-2 connection. *Biochim. Biophys. Acta* **1819**, 555–565.

**Gonzalez-Aguilera C, Tous C, Gomez-Gonzalez B, Huertas P, Luna R, and Aguilera A.** 2008. The THP1-SAC3-SUS1-CDC31 complex works in transcription elongation-mRNA export preventing RNA-mediated genome instability. *Mol. Biol. Cell* **19**, 4310–4318.

**Gordon JMB, Aibara S, and Stewart M.** 2017. Structure of the Sac3 RNA-binding M-region in the *Saccharomyces cerevisiae* TREX-2 complex. *Nucleic Acids Res.* **45**, 5577–5585.

**Jani D, Lutz S, Hurt E, Laskey RA, Stewart M, and Wickramasinghe VO.** 2012. Functional and structural characterization of the mammalian TREX-2 complex that links transcription with nuclear messenger RNA export. *Nucleic Acids Res*. **40**, 4562–4573.

**Jani D, Valkov E, and Stewart M.** 2014. Structural basis for binding the TREX2 complex to nuclear pores, GAL1 localisation and mRNA export. *Nucleic Acids Res*. **42**, 6686–6697.

**Kang S and Yoon JH.** 2006. Construction of spSac3 null mutants defective in mRNA export. *Korean J. Microbiol*. **42**, 153–155.

**Katahira J.** 2015. Nuclear export of messenger RNA. *Gene* **6**, 163–184.

**Koh E and Yoon JH.** 2016. Effects of Cdc31, a component of TREX-2 complex, on growth and mRNA export in fission yeast. *Korean J. Microbiol*. **52**, 383–387.

**Kohler A and Hurt E.** 2007. Exporting RNA from the nucleus to the cytoplasm. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 761–773.

**Maundrell K.** 1993. Thiamine-repressible expression vectors pREP and pRIP for fission yeast. *Gene* **123**, 127–130.

**Rodriguez-Navarro S and Hurt E.** 2011. Linking gene regulation to mRNA production and export. *Curr. Opin. Cell Biol.* **23**, 302–309.

**Schneider M, Hellerschmied D, Schubert T, Amlacher S, Vinayachandran V, Reja R, Pugh BF, Clausen T, and Kohler A.** 2015. The nuclear pore-associated TREX-2 complex employs mediator to regulate gene expression. *Cell* **162**, 1016–1028.

**Schubert T and Kohler A.** 2016. Mediator and TREX-2: Emerging links between transcription initiation and mRNA export. *Nucleus* **7**, 126–131.

**Stewart M.** 2010. Nuclear export of mRNA. *Trends Biochem. Sci.* **35**, 609–617.

**Thakurta AG, Gopal G, Yoon JH, Kozak L, and Dhar R.** 2005. Homolog of BRCA2-interacting Dss1p and Uap56p link Mlo3p and Rae1p for mRNA export in fission yeast. *EMBO J.* **24**, 2512–2523.

**Tous C and Aguilera A.** 2007. Impairment of transcription elongation by R-loops *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **360**, 428–432.

**Umlauf D, Bonnet J, Waharte F, Fournier M, Stierle M, Fischer B, Brino L, Devys D, and Tora L.** 2013. The human TREX-2 complex is stably associated with the nuclear pore basket. *J. Cell Sci.* **126**, 2656–2667.

**Yoon JH, Love D, Guhathakurta A, Hanover JA, and Dhar R.** 2000. Mex67p of *Schizosaccharomyces pombe* interacts with Rae1p in mediating mRNA export. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 8767–8782.